



Evento	Salão UFRGS 2013: SIC - XXV SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2013
Local	Porto Alegre - RS
Título	Expressão de Genes Codificadores de Versões Truncadas da Urease de <i>Canavalia ensiformis</i> em Plantas
Autor	PATRICIA REGINA DHEIN PICOLOTTO
Orientador	GIANCARLO PASQUALI

A agricultura no Rio Grande do Sul cresce a cada ano juntamente à necessidade da produção de maiores quantidades de alimentos. Os danos causados por insetos e fungos nas plantações podem representar grandes perdas e prejuízo aos agricultores e, por isso, novas abordagens para o melhoramento destas culturas são necessárias. As ureases são enzimas níquel-dependentes que catalisam a reação de hidrólise da ureia para formar amônia e dióxido de carbono. As ureases são encontradas em plantas, fungos e bactérias, mas não em animais. A urease da semente de *Canavalia ensiformis* (feijão-de-porco ou *jack bean*) possui três isoformas cujas propriedades inseticida e antifúngica, em maior ou menor grau, já foram comprovadas. Tendo em vista que insetos e fungos são os principais agentes que causam danos às culturas agrícolas, as ureases representam um grande potencial biotecnológico para o melhoramento vegetal. Pelo presente trabalho, tem-se o objetivo de transformar plantas-modelo de tabaco (*Nicotiana tabacum* SR1) com genes que codificam versões truncadas da isoforma Jaburetox-2Ec, denominadas J-V5 e J-Del, e regenerar plantas transgênicas resistentes a determinados tipos de insetos e fungos. Plasmídeos contendo as sequências gênicas codificadoras dos peptídeos foram transformados em células de *Escherichia coli* para clonagem. Plasmídeos e sequências codificadoras foram, então, confirmados por sequenciamento de DNA. Utilizando-se *primers* especialmente projetados, as regiões codificadoras dos peptídeos J-V5 e J-Del foram amplificadas pela reação em cadeia da DNA-polimerase (PCR) e os fragmentos foram combinados ao plasmídeo pENTR/D-TOPO (Invitrogen), obtendo-se clones recombinantes. Por meio de recombinação, de acordo com o sistema Gateway (Invitrogen), os genes J-V5 e J-Del foram concomitantemente transferidos de pENTR/D-TOPO-J-V5/Del para os plasmídeos binários pH7WG2D e pEarleyGATE 100. Em seguida, pH7WG2D-J-Del/V5 e pEarleyGATE 100-J-Del/V5 foram introduzidos em células de *Agrobacterium tumefaciens* LBA4404 para a transformação genética de *N. tabacum* SR1. Nesta etapa, porém, obteve-se apenas resultados positivos para pEarleyGATE 100-J-V5. Prosseguiu-se, então, com esta versão truncada do peptídeo para a transformação de discos foliares de tabaco, na qual se obteve brotos de plantas possivelmente transgênicos. Atualmente, os calos encontram-se em meio de regeneração de brotos. Futuramente, pretende-se avaliar as condições transgênicas das plantas utilizando técnicas moleculares, quantificar o nível de produção da proteína e a verificar a resistência das plantas a insetos e a fungos.